

(12) INTERNATIONAL APPLICATION PUBLISHED UNDER THE PATENT COOPERATION TREATY (PCT)

(19) World Intellectual Property Organization  
International Bureau



(43) International Publication Date  
6 December 2001 (06.12.2001)

PCT

(10) International Publication Number  
**WO 01/91560 A3**

(51) International Patent Classification<sup>7</sup>: **A01N 65/00**, 53/00, 37/40, 31/04 // (A01N 65/00, 65/00, 53/00, 37/40, 27/00) (A01N 53/00, 31/04, 27/00) (A01N 37/40, 31/04, 27/00) (A01N 31/04, 27/00)

(21) International Application Number: **PCT/US01/16758**

(22) International Filing Date: 24 May 2001 (24.05.2001)

(25) Filing Language: English

(26) Publication Language: English

(30) Priority Data:  
60/207,193 26 May 2000 (26.05.2000) US

(71) Applicant (for all designated States except US): **ECOS-MART TECHNOLOGIES, INC.** [US/US]; Suite 202, 318 Seaboard Lane, Franklin, TN 37067 (US).

(72) Inventors; and

(75) Inventors/Applicants (for US only): **BESSETTE, Steven, M.** [US/US]; 873 Nialta Lane, Brentwood, TN 37067 (US). **ENAN, Essam, E.** [US/US]; 20205 Wyndchase Circle, Franklin, TN 37027 (US).

(74) Agents: **GADIANO, Willem, F.** et al.; McDermott, Will & Emery, 600 13th Street, N.W., Washington, DC 20005-3096 (US).

(81) Designated States (national): AE, AG, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EE, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MZ, NO, NZ, PL, PT, RO, RU, SD, SE, SG, SI, SK, SL, TJ, TM, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VN, YU, ZA, ZW.

(84) Designated States (regional): ARIPO patent (GH, GM, KE, LS, MW, MZ, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZW), Eurasian patent (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), European patent (AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE, TR), OAPI patent (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

Published:

— with international search report

(88) Date of publication of the international search report:  
11 April 2002

For two-letter codes and other abbreviations, refer to the "Guidance Notes on Codes and Abbreviations" appearing at the beginning of each regular issue of the PCT Gazette.

WO 01/91560 A3

(54) Title: PESTICIDAL COMPOSITIONS CONTAINING MINERAL OIL AND/OR SOYBEAN OIL

(57) Abstract: Synergistic pesticidal compositions for quick knockdown, kill and control of household pests, including cockroaches, containing mineral oil and/or soybean oil with and without other plant essential oils. In addition, the present invention is directed to a method for controlling household pests by applying a pesticidally-effective amount of the above pesticidal compositions to a locus where pest control is desired.

**BEST AVAILABLE COPY**

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No

PCT/US 01/16758

## A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

IPC 7 A01N65/00 A01N53/00 A01N37/40 A01N31/04 // (A01N65/00, 65:00, 53:00, 37:40, 27:00), (A01N53/00, 31:04, 27:00), (A01N37/40, 31:04, 27:00), (A01N31/04, 27:00)

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

## B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)  
IPC 7 A01N

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used)

EPO-Internal, WPI Data, PAJ, BIOSIS, CHEM ABS Data

## C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	WO 00 05964 A (BESSETTE STEVEN M ; ECOSMART TECHNOLOGIES INC (US); BEIGLER MYRON A) 10 February 2000 (2000-02-10) page 1 -page 5 page 6, last paragraph -page 7, paragraph 1; claims 1,6,7; examples 1,8,9,21,22 ---	1-7
X	WO 99 52359 A (WOODSTREAM CORP ; ZOBITNE KAREN A (US); GEHRET MICHAEL J (US)) 21 October 1999 (1999-10-21) page 3, line 6 -page 4, line 6; claims 1,4,7 page 9 -page 10 page 30, line 27 -page 31, line 2 ---	1-7 -/-

 Further documents are listed in the continuation of box C. Patent family members are listed in annex.

## \* Special categories of cited documents :

- \*A\* document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
- \*E\* earlier document but published on or after the international filing date
- \*L\* document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
- \*O\* document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
- \*P\* document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

\*T\* later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

\*X\* document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

\*Y\* document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art.

\*&\* document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

8 January 2002

Date of mailing of the international search report

15/01/2002

## Name and mailing address of the ISA

European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2  
NL - 2280 HV Rijswijk  
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl.  
Fax: (+31-70) 340-3016

## Authorized officer

Muellners, W

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No  
PCT/US 01/16758

## C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	DE 37 17 467 A (PEARSON & CO GMBH & CO) 1 December 1988 (1988-12-01) column 1, line 53 - line 60; claim 1 column 2, line 22 - line 68 ----	1-7
X	DE 44 21 471 A (TEMMEN GMBH) 25 January 1996 (1996-01-25) the whole document ----	1-7
A	NGOH S P ET AL: "INSECTICIDAL AND REPELLENT PROPERTIES OF NINE VOLATILE CONSTITUENTS OF ESSENTIAL OILS AGAINST THE AMERICAN COCKROACH, PERiplaneta americana (L)" PESTICIDE SCIENCE, ELSEVIER APPLIED SCIENCE PUBLISHER, BARKING, GB, vol. 54, no. 3, November 1998 (1998-11), pages 261-268, XP000804294 ISSN: 0031-613X page 261, the abstract page 267, left-hand column, paragraph 2 ----	1-7
P,X	WO 01 00032 A (BESSETTE STEVEN M ; ECOSMART TECHNOLOGIES INC (US); ENAN ESSAM E (U) 4 January 2001 (2001-01-04) page 1 -page 2 pages 14-16, study E page 6, paragraph 1; claims ----	1-7
E	WO 01 91556 A (BESSETTE STEVEN M ; ECOSMART TECHNOLOGIES INC (US); ENAN ESSAM E (U) 6 December 2001 (2001-12-06) the whole document , sentence 15 -----	1-7

# INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International Application No

PCT/US 01/16758

Patent document cited in search report		Publication date		Patent family member(s)	Publication date
WO 0005964	A	10-02-2000	AU BR CN EP NO WO	5237999 A 9912691 A 1322110 T 1102540 A1 20010466 A 0005964 A1	21-02-2000 09-10-2001 14-11-2001 30-05-2001 27-03-2001 10-02-2000
WO 9952359	A	21-10-1999	US AU CN EP WO	5998484 A 3636799 A 1297327 T 1071323 A1 9952359 A1	07-12-1999 01-11-1999 30-05-2001 31-01-2001 21-10-1999
DE 3717467	A	01-12-1988	DE DE	3717467 A1 3733640 A1	01-12-1988 13-04-1989
DE 4421471	A	25-01-1996	DE	4421471 A1	25-01-1996
WO 0100032	A	04-01-2001	AU AU WO WO	5771900 A 5894600 A 0100032 A1 0100034 A1	31-01-2001 31-01-2001 04-01-2001 04-01-2001
WO 0191556	A	06-12-2001	WO	0191556 A2	06-12-2001

(12) INTERNATIONAL APPLICATION PUBLISHED UNDER THE PATENT COOPERATION TREATY (PCT)

(19) World Intellectual Property Organization  
International Bureau



(43) International Publication Date  
6 December 2001 (06.12.2001)

PCT

(10) International Publication Number  
**WO 01/91560 A2**

(51) International Patent Classification<sup>7</sup>: **A01N 65/00, 53/00, 37/40, 31/04 // (A01N 65/00, 65/00, 53/00, 37/40, 27/00) (A01N 53/00, 31/04, 27/00) (A01N 37/40, 31/04, 27/00) (A01N 31/04, 27/00)**

(21) International Application Number: **PCT/US01/16758**

(22) International Filing Date: **24 May 2001 (24.05.2001)**

(25) Filing Language: **English**

(26) Publication Language: **English**

(30) Priority Data:  
**60/207,193 26 May 2000 (26.05.2000) US**

(71) Applicant (*for all designated States except US*): **ECOS-MART TECHNOLOGIES, INC. [US/US]; Suite 202, 318 Seaboard Lane, Franklin, TN 37067 (US).**

(72) Inventors; and

(75) Inventors/Applicants (*for US only*): **BESSETTE, Steven, M. [US/US]; 873 Nialta Lane, Brentwood, TN 37067 (US). ENAN, Essam, E. [US/US]; 20205 Wyndchase Circle, Franklin, TN 37027 (US).**

(74) Agents: **GADIANO, Willem, F. et al.; McDermott, Will & Emery, 600 13th Street, N.W., Washington, DC 20005-3096 (US).**

(81) Designated States (*national*): **AE, AG, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EE, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MZ, NO, NZ, PL, PT, RO, RU, SD, SE, SG, SI, SK, SL, TJ, TM, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VN, YU, ZA, ZW.**

(84) Designated States (*regional*): **ARIPO patent (GH, GM, KE, LS, MW, MZ, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZW), Eurasian patent (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), European patent (AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE, TR), OAPI patent (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).**

Published:

— without international search report and to be republished upon receipt of that report

For two-letter codes and other abbreviations, refer to the "Guidance Notes on Codes and Abbreviations" appearing at the beginning of each regular issue of the PCT Gazette.

WO 01/91560 A2

(54) Title: **PESTICIDAL COMPOSITIONS CONTAINING MINERAL OIL AND/OR SOYBEAN OIL**

(57) Abstract: Synergistic pesticidal compositions for quick knockdown, kill and control of household pests, including cockroaches, containing mineral oil and/or soybean oil with and without other plant essential oils. In addition, the present invention is directed to a method for controlling household pests by applying a pesticidally-effective amount of the above pesticidal compositions to a locus where pest control is desired.

**PESTICIDAL COMPOSITIONS CONTAINING MINERAL OIL AND/OR SOYBEAN OIL****FIELD OF THE INVENTION**

The present invention relates, in general, to synergistic pesticidal compositions containing plant essential oils against household pests, including cockroaches. In one aspect, the present invention relates to synergistic pesticidal compositions containing one or more plant essential oils and/or derivatives thereof to be used as a contact pesticide against household pests for quick knockdown and mortality. In a further aspect, the present invention relates to a method for controlling household pests by the application of pesticidally effective amounts of the pesticidal compositions to a locus where pest control is desired.

**BACKGROUND OF THE INVENTION**

Pests (invertebrates, insects, arachnids, larvae thereof, etc.) are annoying to humans for a myriad of reasons. They have annually cost humans billions of dollars in crop losses and in the expense of keeping them under control. For example, the losses caused by pests in agricultural environments include decreased crop yield, reduced crop quality, and increased harvesting costs. In household scenarios, insect pests may act as vectors for diseases and allergic matter.

Over the years, synthetic chemical pesticides have provided an effective means of pest control. For example, one approach teaches the use of complex, organic insecticides, such as disclosed in U.S. Pat. Nos. 4,376,784 and 4,308,279. Other approaches employ absorbent organic polymers for widespread dehydration of the insects. See, U.S. Pat. Nos. 4,985,251; 4,983,390; 4,818,534; and 4,983,389. Use of inorganic salts as components of pesticides has also been tried, as disclosed in U.S. Pat. Nos. 2,423,284 and 4,948,013, European Patent Application No. 462 347, Chemical Abstracts 119(5): 43357q (1993) and Farm Chemicals Handbook, page c102 (1987).

However, it has become increasingly apparent that the widespread use of synthetic chemical pesticides has caused detrimental environmental effects that are harmful to humans and other animals. For instance, the public has become concerned about the amount of residual chemicals that persist in food, ground water and the environment, and that are toxic, carcinogenic or otherwise incompatible to humans, domestic animals and/or fish. Moreover, some target pests have even shown an ability to develop immunity to many commonly used synthetic chemical pesticides. In recent times, regulatory guidelines have encouraged a search for potentially less dangerous pesticidal compositions via stringent restrictions on the use of certain synthetic pesticides. As a result, elimination of effective pesticides from the market has limited economical and effective options for controlling pests. As an alternative, botanical pesticides are of great interest because they are natural pesticides, i.e., toxicants derived from plants that are safe to humans and the environment.

Accordingly, there is a great need for novel pesticidal compositions, containing no pyrethrum, synthetic pyrethroids, chlorinated hydrocarbons, organo phosphates, carbamates and the like, to be used against household pests. In addition, there is a need for a method of treating the locus where pest control is desired.

5

### SUMMARY OF THE INVENTION

A primary object of the present invention is to provide novel, synergistic pesticidal compositions for use against household pests, including cockroaches.

Another object of the invention is to provide novel, synergistic pesticidal compositions containing one or more plant essential oils and/or derivatives thereof, natural or synthetic, as a contact 10 pesticide in the household against pests, to provide quick knockdown and mortality.

It is also an object of the present invention to provide a method of treating a locus where pest control is desired.

It is also an object of the present invention to provide a synergistic pesticidal composition and method for mechanically and neurally controlling household pests.

15 It is a further object to provide a safe, non-toxic pesticidal composition and method that will not harm mammals or the environment.

It is still another object to provide a synergistic pesticidal composition and method that has a pleasant scent or is unscented, and that can be applied without burdensome safety precautions.

20 It is still another object to provide a synergistic pesticidal composition and method as described above which can be inexpensively produced or employed.

It is yet another object of the invention to provide a synergistic pesticidal composition and method to which pests cannot build immunity.

The above and other objects are accomplished by the present invention which is directed to synergistic pesticidal compositions comprising plant essential oils and/or derivatives thereof, natural 25 or synthetic, in admixture with suitable carriers. In addition, the present invention is directed to a method for controlling household pests by applying a pesticidally-effective amount of the above pesticidal compositions to a locus where pest control is desired.

Additional objects and attendant advantages of the present invention will be set forth, in part, in the description that follows, or may be learned from practicing or using the present invention. The 30 objects and advantages may be realized and attained by means of the instrumentalities and combinations particularly recited in the appended claims. It is to be understood that the foregoing general description and the following detailed description are exemplary and explanatory only and are not to be viewed as being restrictive of the invention, as claimed.

### DETAILED DESCRIPTION OF PREFERRED EMBODIMENTS

All patents, patent applications and literatures cited in this description are incorporated herein by reference in their entirety. In the case of inconsistencies, the present disclosure, including definitions, will prevail.

5       In one embodiment, the present invention provides a synergistic pesticidal composition comprising, in admixture with a suitable carrier and optionally with a suitable surface active agent, two or more plant essential oil compounds and derivatives thereof, natural or synthetic, including racemic mixtures, enantiomers, diastereomers, hydrates, salts, solvates and metabolites, etc.

10      The plant essential oil is selected from the group of soybean oil, mineral oil, menthyl salicylate, benzyl alcohol and combinations thereof. As these plant essential oil compounds are known and used for other uses, they may be prepared by a skilled artisan by employing known methods.

15      For example, in a preferred embodiment, the present invention is directed to a synergistic pesticidal composition for controlling household pests, including cockroaches, comprising a mixture of plant essential oils which include 93% mineral oil, 2% soybean oil, 4% benzyl alcohol, and 1% menthyl salicylate with a suitable solvent carrier. Data below shows that this embodiment is highly effective, i.e. exhibited fast knockdown and mortality against cockroaches.

20      It will be appreciated by the skilled artisan that the pesticidal compositions of the present invention unexpectedly exhibit excellent pesticidal activities using one or more U.S. F.D.A. approved plant essential oils, in lieu of conventional pesticides which are not safe for use in households and other sensitive areas. Without wishing to be bound by the following theories, it is believed that plant essential oils antagonize a pest's nerve receptors or may act as Phase I and/or Phase II drug metabolizing enzyme inhibitors. Alternatively, plant essential oils may act via an alternative mode of action. The plant essential oils may act as agonists or antagonists against the octopamine receptors that are distinct to invertebrates. In any event, the net effect of the toxicity and speed of action of the 25 inventive composition disclosed herein is heretofore unknown and unexpected.

30      Use of synergistic pesticidal compositions of the present invention generally results in fast knockdown and 100% mortality on contact. As such, they are advantageously employed as pesticidal agents in uses such as, without limitation, households, agriculture, organic farming, professional pest control, pet bedding, foliage application, underwater or submerged application, solid treatment, soil incorporation application, seedling box treatment, stalk injection and planting treatment, ornamentals, termites, mosquitoes, fire ants, head lice, dust mites, etc.

With respect to soil, the pesticidal compositions resist weathering which includes wash-off caused by rain, decomposition by ultra-violet light, oxidation, or hydrolysis in the presence of moisture or, at least such decomposition, oxidation and hydrolysis as would materially decrease the

desirable pesticidal characteristic of the pesticidal compositions or impart undesirable characteristics to the pesticidal compositions. The pesticidal compositions are so chemically inert that they are compatible with substantially any other constituents of pest control, and they may be used in the soil, upon the seeds, or the roots of plants without injuring either the seeds or roots of plants. They may 5 also be used in combination with other pesticidally active compounds.

The term "carrier" as used herein means an inert or fluid material, which may be inorganic or organic and of synthetic or natural origin, with which the active compound is mixed or formulated to facilitate its application to the container or carton or other object to be treated, or its storage, transport and/or handling. In general, any of the materials customarily employed in formulating pesticides, 10 herbicides, or fungicides, are suitable. The inventive synergistic pesticidal compositions of the present invention may be employed alone or in the form of mixtures with such solid and/or liquid dispersible carrier vehicles and/or other known compatible active agents such as other pesticides, or acaricides, nematicides, fungicides, bactericides, rodenticides, herbicides, fertilizers, growth-regulating agents, etc., if desired, or in the form of particular dosage preparations for specific application made 15 therefrom, such as solutions, emulsions, suspensions, powders, pastes, and granules which are thus ready for use. The synergistic pesticidal compositions of the present invention can be formulated or mixed with, if desired, conventional inert pesticide diluents or extenders of the type usable in conventional pesticide formulations or compositions, e.g. conventional pesticide dispersible carrier vehicles such as gases, solutions, emulsions, suspensions, emulsifiable concentrates, spray powders, 20 pastes, soluble powders, dusting agents, granules, foams, pastes, tablets, aerosols, natural and synthetic materials impregnated with active compounds, microcapsules, coating compositions for use on seeds, and formulations used with burning equipment, such as fumigating cartridges, fumigating cans and fumigating coils, as well as ULV cold mist and warm mist formulations, etc.

Formulations containing the synergistic pesticidal compositions of the present invention may 25 be prepared in any known manner, for instance by extending the pesticidal compositions with conventional pesticide dispersible liquid diluent carriers and/or dispersible solid carriers optionally with the use of carrier vehicle assistants, e.g. conventional pesticide surface-active agents, including emulsifying agents and/or dispersing agents, whereby, for example, in the case where water is used as diluent, organic solvents may be added as auxiliary solvents. Suitable liquid diluents or carriers 30 include water, petroleum distillates, or other liquid carriers with or without surface active agents. The choice of dispersing and emulsifying agents and the amount employed is dictated by the nature of the composition and the ability of the agent to facilitate the dispersion of the pesticidal compositions of the present invention. Non-ionic, anionic, amphoteric, or cationic dispersing and emulsifying agents

may be employed, for example, the condensation products of alkylene oxides with phenol and organic acids, alkyl aryl sulfonates, complex ether alcohols, quaternary ammonium compounds, and the like.

Liquid concentrates may be prepared by dissolving a composition of the present invention with a solvent and dispersing the pesticidal compositions of the present inventions in water with the  
5 acid of suitable surface active emulsifying and dispersing agents. Examples of conventional carrier vehicles for this purpose include, but are not limited to, aerosol propellants which are gaseous at normal temperatures and pressures, such as Freon; inert dispersible liquid diluent carriers, including inert organic solvents, such as aromatic hydrocarbons (e.g. benzene, toluene, xylene, alkyl naphthalenes, etc.), halogenated especially chlorinated, aromatic hydrocarbons (e.g. chloro-benzenes,  
10 etc.), cycloalkanes, (e.g. cyclohexane, etc.) paraffins (e.g. petroleum or mineral oil fractions), chlorinated aliphatic hydrocarbons (e.g. methylene chloride, chloroethylenes, etc.), alcohols (e.g. methanol, ethanol, propanol, butanol, glycol, etc.) as well as ethers and esters thereof (e.g. glycol monomethyl ether, etc.), amines (e.g. ethanolamine, etc.), amides (e.g. dimethyl formamide etc.) sulfoxides (e.g. dimethyl sulfoxide, etc.), acetonitrile, ketones (e.g. acetone, methyl ethyl ketone,  
15 methyl isobutyl ketone, cyclohexanone, etc.), and/or water; as well as inert dispersible finely divided solid carriers such as ground natural minerals (e.g. kaolins, clays, vermiculite, alumina, silica, chalk, i.e. calcium carbonate, talc, attapulgite, montmorillonite, kieselguhr, etc.) and ground synthetic minerals (e.g. highly dispersed silicic acid, silicates, e.g. alkali silicates, etc.).

Surface-active agents, i.e., conventional carrier vehicle assistants, that may be employed with  
20 the present invention include, without limitation, emulsifying agents, such as non-ionic and/or anionic emulsifying agents (e.g. polyethylene oxide esters of fatty acids, polyethylene oxide ethers of fatty alcohols, alkyl sulfates, alkyl sulfonates, aryl sulfonates, albumin hydrolyzates, etc. and especially alkyl arylpolyglycol ethers, magnesium stearate, sodium oleate, etc.); and/or dispersing agents such as lignin, sulfite waste liquors, methyl cellulose, etc.

In the preparation of wettable powders, dust or granulated formulations, the active ingredient  
25 is dispersed in and on an appropriately divided carrier. In the formulation of the wettable powders the aforementioned dispersing agents as well as lignosulfonates can be included. Dusts are admixtures of the compositions with finely divided solids such as talc, attapulgite clay, kieselguhr, pyrophyllite, chalk, diatomaceous earth, vermiculite, calcium phosphates, calcium and magnesium carbonates,  
30 sulfur, flours, and other organic and inorganic solids which act as carriers for the pesticide. These finely divided solids preferably have an average particle size of less than about 50 microns. A typical dust formulation useful for controlling insects contains 1 part of pesticidal composition and 99 parts of diatomaceous earth or vermiculite. Granules may comprise porous or nonporous particles. The granule particles are relatively large, a diameter of about 400-2500 microns typically. The particles are either

impregnated or coated with the inventive pesticidal compositions from solution. Granules generally contain 0.05-15%, preferably 0.5-5%, active ingredient as the pesticidally-effective amount. Thus, the contemplated are formulations with solid carriers or diluents such as bentonite, fullers earth, ground natural minerals, such as kaolins, clays, talc, chalk, quartz, attapulgite, montmorillonite or 5 diatomaceous earth, vermiculite, and ground synthetic minerals, such as highly-dispersed silicic acid, alumina and silicates, crushed and fractionated natural rocks such as calcite, marble, pumice, sepiolite and dolomite, as well as synthetic granules of inorganic and organic meals, and granules of organic materials such as sawdust, coconut shells, corn cobs and tobacco stalks. Adhesives, such as 10 carboxymethyl cellulose, natural and synthetic polymers, (such as gum arabic, polyvinyl alcohol and polyvinyl acetate), and the like, may also be used in the formulations in the form of powders, granules or emulsifiable concentrations.

If desired, colorants such as inorganic pigments, for example, iron oxide, titanium oxide and Prussian Blue, and organic dyestuffs, such as alizarin dyestuffs, azo dyestuffs or metal phthalocyanine dyestuffs, and trace elements, such as salts of iron, manganese, boron, copper, cobalt, molybdenum 15 and zinc may be used.

In commercial applications, the present invention encompasses carrier composition mixtures in which the synergistic pesticidal compositions are present in an amount substantially between about 0.01-95% by weight, and preferably 0.5-90% by weight, of the mixture, whereas carrier composition mixtures suitable for direct application or field application generally contemplate those in which the 20 active compound is present in an amount substantially between about 0.0001-10%, preferably 0.01-1%, by weight of the mixture. Thus, the present invention contemplates over-all formulations that comprise mixtures of a conventional dispersible carrier vehicle such as (1) a dispersible inert finely divided carrier solid, and/or (2) a dispersible carrier liquid such as an inert organic solvent and/or water, preferably including a surface-active effective amount of a carrier vehicle assistant, e.g. a 25 surface-active agent, such as an emulsifying agent and/or a dispersing agent, and an amount of the active compound which is effective for the purpose in question and which is generally between about 0.0001-95%, and preferably 0.01-95%, by weight of the mixture.

The synergistic pesticidal compositions can also be used in accordance with so-called ultra-low-volume process, i.e. by applying such compounds or by applying a liquid composition containing 30 the same, via very effective atomizing equipment, in finely divided form, e.g. average particle diameter of from 50-100 microns, or even less, i.e. mist form, for example by airplane crop spraying techniques. In this process it is possible to use highly concentrated liquid compositions with said liquid carrier vehicles containing from about 20 to 95% by weight of the synergistic pesticidal compositions or even the 100% active substances alone, e.g. about 20-100% by weight of the synergistic pesticidal

compositions. The concentration in the liquid concentrate will usually vary from about 10 to 95 percent by weight and in the solid formulations from about 0.5 to 90 percent by weight.

Furthermore, the present invention encompasses methods for killing, combating or controlling pests, which comprises applying to at least one of correspondingly (a) such pests and (b) the corresponding habitat thereof, i.e. the locus to be protected, e.g. to the household, a correspondingly combative, a pesticidally effective amount, or toxic amount of the particular synergistic pesticidal compositions of the invention alone or together with a carrier as noted above. The instant formulations or compositions may be applied in any suitable usual manner, for instance by spraying, atomizing, vaporizing, scattering, dusting, watering, squirting, sprinkling, pouring, fumigating, and the like. The method for controlling cockroaches comprises applying the inventive composition, ordinarily in a formulation of one of the aforementioned types, either directly to the insect pest or to a locus or area to be protected from the cockroaches, such as the household. The compound, of course, is applied in an amount sufficient to effect the desired action. This dosage is dependent upon many factors, including the targeted pest, the carrier employed, the method and conditions of the application, whether the formulation is present at the locus in the form of an aerosol, or as a film, or as discrete particles, the thickness of film or size of particles, and the like. Proper consideration and resolution of these factors to provide the necessary dosage of the active compound at the locus to be protected are within the skill of those versed in the art. In general, however, the effective dosage of the compound of this invention at the locus to be protected-i.e., the dosage with which the pest comes in contact-is of the order of 0.001 to 5.0% based on the total weight of the formulation, though under some circumstances the effective concentration will be as little as 0.0001% or as much as 20%, on the same basis.

The synergistic pesticidal compositions and methods of the present invention are effective against household pests and it will be understood that the cockroaches exemplified and evaluated in the working Examples herein is representative of such a wider variety.

The composition and method of the present invention will be further illustrated in the following, non-limiting Examples. The Examples are illustrative of various embodiments only and do not limit the claimed invention regarding the materials, conditions, weight ratios, process parameters and the like recited herein.

**EXAMPLE 1****Synergistic Pesticidal Effects of Plant Essential Oils against the American Cockroach**

Certain plant essential oil mixtures were evaluated for contact toxicity (walk-across) against

5 American cockroaches. The plant essential oils were dissolved into either soybean oil or mineral oil as the carrier by weight to total formulation. A 1 ml of each test substance was applied to glass quart jars. Three American cockroaches were then exposed to the treated jars and observed for knockdown and mortality for one hour post treatment, and several intervals thereafter. The test substances included benzyl alcohol, methyl salicylate, pyrethrins, and various combinations of these substances with  
10 mineral oil and soybean oil. Mineral oil with only soybean oil was also tested. Mineral oil by itself and soybean oil by itself were also tested as controls.

BA=Benzyl Alcohol

MnSa=Methyl Salicylate

15 **Soybean oil/mineral oil based blends study**

Test blends	% BA MnSa Soybean oil mineral oil pyrethrins				
	BA	MnSa	Soybean oil	mineral oil	pyrethrins
E1	4	1	2	93	0
E2	4	0	2	94	0
E3	4	1	0	95	0
E4	4	0	2	93.95	0.05
E5	4	0	0	95.95	0.05
E6	4	0	0	96	0
E7	0	0	0	99.95	0.05
E8	0	0	99.95	0	0.05
E9	0	0	2	97.95	0.05
E10	0	0	2	98	0
E11	0	1	0	99	0
E12	0	1	2	97	0
E13	0	0	0	100	0
E14	0	0	100	0	0

	<b>Test blend</b>	<b>number of insects</b>	<b>Results</b>			
			<b>KD</b>	<b>Time</b>	<b>M</b>	
5	E1	3	1 0	30 sec	1 2	60 sec 120 sec
	E2	3	1	30 sec	3	60 sec
10	E3	3	1 0	60 sec	1 2	60 sec 8 min
	E4	3	1	60 sec	1 2	90 sec 5 min
15	E5	3	0 0		2 1	90 sec 2½ min
	E6	3	1 0	20 sec	1 2	60 sec 3 min
20	E7	3	2 1	60 sec 90 sec	0 0 3	3 min
	E8	3	1 1	20 sec 40 sec	1 2	40 sec 5 min
25	E9	3	0 0		1 2	4 min 6½ min
	E10	3	0 1 0	8 min	1 0 2	60 sec 10 min
30	E11	3	1 0	40 sec	1 2	5 min 10 min
	E12	3	0		3	4 min
35	E13	3	0		3	65 min
	E14	3	0		3	24 hr

45 The data demonstrate the potent synergistic action of plant essential oil mixtures including mineral oil and soybean oil versus these oils by themselves, against a difficult household pest, the American cockroach. Combinations of these oils provided enhanced knockdown and mortality as

compared to the slow action of the individual oils, and suggests unique modes of action, possibly the interaction of different nerve pathways and targets being affected in the insects.

This data clearly demonstrates that plant essential oils may be used as a safe and effective alternative pesticide for control of household pests, such as American cockroaches. The plant essential  
5 oils demonstrated rapid speed of action and total control.

As can be seen from the above discussion, the synergistic pesticidal combinations of active compounds according to the present invention are markedly superior to known pesticidal agents/active compounds conventionally used for control of household pests, including the use of soybean oil or mineral oil individually.

10 Although illustrative embodiments of the invention have been described in detail, it is to be understood that the present invention is not limited to those precise embodiments, and that various changes and modifications can be effected therein by one skilled in the art without departing from the scope and spirit of the invention as defined by the appended claims.

**WHAT IS CLAIMED IS:**

1. A contact, synergistic pesticidal composition for the control of household pests, including cockroaches, comprising, in admixture with an acceptable carrier, at least two plant essential oil compounds or derivatives thereof.  
5        2. The synergistic pesticidal composition of claim 1, wherein the plant essential oil or derivative thereof, is selected from the group consisting of mineral oil, soybean oil, benzyl alcohol, menthyl salicylate and pyrethrins.
- 10        3. A synergistic pesticidal composition for quick knockdown and kill of household pests, including cockroaches, comprising, in admixture with an acceptable carrier, at least two plant essential oil compounds or derivatives thereof.
- 15        4. The synergistic pesticidal composition of claim 3, wherein the plant essential oil or derivative thereof, is selected from the group consisting of mineral oil, soybean oil, benzyl alcohol, menthyl salicylate and pyrethrins.
- 20        5. A repellent, synergistic pesticidal composition for the control of household pests, including cockroaches, comprising, in admixture with an acceptable carrier, at least two plant essential oil compounds or derivatives thereof.
6. The synergistic pesticidal composition of claim 5, wherein the plant essential oil or derivative thereof, is selected from the group consisting of mineral oil, soybean oil, benzyl alcohol, menthyl salicylate and pyrethrins.
7. A method for controlling household pests, including cockroaches, which comprises applying to the locus where control is desired a pesticidally-effective amount of the composition of claim 1.

(12) DEMANDE INTERNATIONALE PUBLIÉE EN VERTU DU TRAITÉ DE COOPÉRATION  
EN MATIÈRE DE BREVETS (PCT)

(19) Organisation Mondiale de la Propriété  
Intellectuelle  
Bureau international



(43) Date de la publication internationale  
9 janvier 2003 (09.01.2003)

PCT

(10) Numéro de publication internationale  
**WO 03/001912 A1**

(51) Classification internationale des brevets<sup>7</sup> : A01N 37/40 // (A01N 37/40, 61;00, 63;04, 37;46)

(74) Mandataires : VIALLE-PRESLES, Marie José etc.; Cabinet Ores, 6, avenue de Messine, F-75008 Paris (FR).

(21) Numéro de la demande internationale :  
PCT/FR02/02246

(81) États désignés (*national*) : AE, AG, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EC, EE, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MZ, NO, NZ, OM, PH, PL, PT, RO, RU, SD, SE, SG, SI, SK, SL, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VN, YU, ZA, ZM, ZW.

(22) Date de dépôt international : 28 juin 2002 (28.06.2002)

(25) Langue de dépôt : français

(26) Langue de publication : français

(30) Données relatives à la priorité :  
01/08611 29 juin 2001 (29.06.2001) FR

(84) États désignés (*regional*) : brevet ARIPO (GH, GM, KE, LS, MW, MZ, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), brevet eurasien (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), brevet européen (AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE, TR), brevet OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

(71) Déposant (*pour tous les États désignés sauf US*) :  
INSTITUT NATIONAL DE LA RECHERCHE  
AGRONOMIQUE (INRA) [FR/FR]; 147 rue de l'Université, F-75007 Paris (FR).

**Publiée :**  
— avec rapport de recherche internationale  
— avant l'expiration du délai prévu pour la modification des revendications, sera republiée si des modifications sont reçues

(71) Déposant et

(72) Inventeur : DE MIL, Christophe [FR/FR]; 7, rue Méchain, F-75014 Paris (FR).

(72) Inventeurs; et

(75) Inventeurs/Déposants (*pour US seulement*) : BLEIN, Jean-Pierre [FR/FR]; 8, Rue du 19 Mai 1964, F-21490 Varois-chaignot (FR). SUTY, Lydie [FR/FR]; 32, rue Claude Houin, F-21000 Dijon (FR).

En ce qui concerne les codes à deux lettres et autres abréviations, se référer aux "Notes explicatives relatives aux codes et abréviations" figurant au début de chaque numéro ordinaire de la Gazette du PCT.

**WO 03/001912 A1**

(54) Title: USE OF SALICYLIC ACID ESTERS AND ASSOCIATIONS THEREOF WITH ELICITINS IN THE PROTECTION OF PLANTS

(54) Titre : UTILISATION EN PHYTOPROTECTION D'ESTERS D'ACIDE SALICYLIQUE ET DE LEURS ASSOCIATIONS AVEC DES ELICITINES.

(57) Abstract: The invention relates to the use of a fatty acid and salicylic acid ester in an association with, or not in an association with, an elicitin in order to protect plants against various pathogenic agents.

(57) Abrégé : L'invention est relative à l'utilisation d'un ester d'acide gras et d'acide salicylique, en association ou non avec une élicitine, pour une protection de végétaux vis à vis de divers agents pathogènes.

**UTILISATION EN PHYTOPROTECTION D'ESTERS D'ACIDE SALICYLIQUE  
ET DE LEURS ASSOCIATIONS AVEC DES ELICITINES.**

L'invention concerne la protection des végétaux vis à vis d'agents phytopathogènes.

5 Depuis plusieurs années déjà, on cherche à améliorer les méthodes de lutte contre les maladies des plantes, en limitant au maximum l'utilisation de produits polluants.

10 Les principales approches envisagées comprennent la sélection de plantes résistantes aux agents pathogènes, et l'induction des mécanismes naturels de défense des plantes et, en particulier, la résistance systémique acquise (RSA).

15 La résistance systémique acquise est un mécanisme de défense activé lors de l'infection par certains organismes phytopathogènes, et qui confère une protection durable de la plante non seulement vis-à-vis du pathogène inducteur, mais également vis-à-vis d'autres pathogènes, notamment des microorganismes ou des virus.

20 La RSA résulte d'une cascade complexe de réactions, en réponse à un signal initial (dénommé "éliciteur"), qui est généralement une molécule produite par un organisme pathogène. Parmi les éliciteurs les mieux caractérisés, on citera les elicines [cf. revue par P. RICCI, "Induction of the Hypersensitive Response and 25 Systemic Acquired Resistance by Fungal Proteins : the Case of Elicitins", parue dans Plant-Microbes Interactions, Volume 3, édité par G. STACEY et N.T. KEEN, (éditions CHAPMAN et HALL) pp. 53-75, (1997)].

30 Ces protéines, produites par différentes espèces de champignons phytopathogènes des genres *Phytophthora* et *Pythium*, déclenchent chez les plantes réactives une cascade de signalisation, se manifestant dans un premier temps par l'apparition rapide d'une réponse de type "hypersensible" (RH) qui entraîne localement ou à distance, la formation de 35 lésions nécrotiques associée à la mise en place d'une RSA à large spectre. Bien que les processus, et notamment les signaux cellulaires, impliqués dans l'induction de la RSA ne soient pas complètement connus, il apparaît toutefois que

l'acide salicylique joue un rôle important dans ce mécanisme d'induction cf. par exemple MALAMY et KLESSIG, Plant J., 2 : 643-654, (1992).

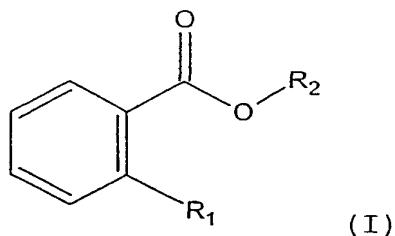
Afin de renforcer les défenses naturelles des plantes contre des agents pathogènes, on a cherché à reproduire artificiellement la RSA notamment en recherchant des éliciteurs de synthèse qui pourraient reproduire les effets de molécules naturelles telles que les élicitines. L'utilisation de l'acide salicylique a ainsi été proposée ; toutefois, bien que l'on observe l'induction d'une RSA, on n'obtient en pratique qu'une faible protection.

Quelques molécules de synthèse ont été décrites comme de meilleurs inducteurs de RSA que l'acide salicylique. il s'agit de dérivés de l'acide nicotinique, et notamment l'acide 2,6-dichloroisonicotinique [KLAUSS et al., Plant J., 2 : 655-660, (1992)] ou de dérivés de l'acide benzoïque et notamment le benzo (1, 2, 3) thiadiazole-carbothioic acid S-methylester [GÖRLACH et al., Plant Cell, 8 : 629-643, (1996)]. Des acides gras aminés, en particulier l'acide-aminobutyrique, ont aussi été décrits comme pouvant améliorer la résistance aux maladies [COHEN et al., Plant Physiol., 104 : 59-66, (1994)].

La présente invention propose de nouveaux inducteurs de résistance systémique acquise, utilisables en phytoprotection.

Les Inventeurs ont en effet constaté que certains dérivés d'acide salicylique permettaient d'induire chez les plantes une résistance systémique acquise conférant une protection vis-à-vis des pathogènes supérieure à celle conférée par l'acide salicylique.

La présente invention a pour objet l'utilisation d'un dérivé d'acide salicylique choisi parmi des composés de formule générale (I)



5 dans laquelle :

- a) R<sub>1</sub> est un groupe hydroxyle et R<sub>2</sub> est une chaîne aliphatique ou alicyclique en C<sub>2</sub> à C<sub>22</sub>, de préférence en C<sub>4</sub> à C<sub>14</sub>, et avantageusement en C<sub>4</sub> à C<sub>10</sub>, ou bien ;
- 10 b) R<sub>1</sub> est un groupe 2-oxy ester de formule -O-CO-R<sub>3</sub> dans laquelle R<sub>3</sub> est une chaîne aliphatique ou alicyclique en C<sub>1</sub> à C<sub>21</sub>, de préférence en C<sub>3</sub> à C<sub>13</sub>, et avantageusement en C<sub>3</sub> à C<sub>9</sub>, et R<sub>2</sub> est un atome d'hydrogène, ou bien ;
- c) R<sub>1</sub> est un groupe 2-oxy ester de formule -O-CO-R<sub>3</sub> où R<sub>3</sub> est 15 défini comme ci-dessus, et R<sub>2</sub> est une chaîne aliphatique ou alicyclique en C<sub>2</sub> à C<sub>22</sub>, de préférence en C<sub>4</sub> à C<sub>14</sub>, et avantageusement en C<sub>4</sub> à C<sub>10</sub> ;

pour la protection des plantes contre des agents pathogènes, par induction chez lesdites plantes d'une résistance systémique acquise.

20 Les chaînes R<sub>2</sub> et R<sub>3</sub> peuvent éventuellement être substituées, porter une ou plusieurs insaturations, contenir des atomes tels que l'oxygène, le soufre ou l'azote, ou des structures hétérocycliques.

Ces composés pourront également avantageusement 25 être utilisés sous la forme de leurs sels avec une base, organique ou minérale. Des sels particulièrement préférés sont les sels d'acides aminés basiques, notamment de lysine.

Les composés a) comme les composés b) et c) sont connus en eux-mêmes et disponibles dans le commerce. Ils 30 peuvent également être obtenus facilement par des méthodes classiques de synthèse organique, par exemple, dans le cas des composés a), par estérification d'un alcool aliphatique ou alicyclique par un dérivé de l'acide salicylique, dans le

cas des composés b) par estérification de la fonction hydroxyle de l'acide salicylique par un dérivé d'un acide carboxylique, et dans le cas des composés c) estérification des composés b) par un alcool à chaîne aliphatique ou 5 alicyclique.

Des composés préférés pour la mise en œuvre de la présente invention sont les composés b).

Des composés particulièrement préférés sont des esters d'un acide carboxylique à nombre pair d'atomes de 10 carbone, et d'acide salicylique, parmi lesquels on citera notamment: l'acide octanoate-2-salicylique, l'acide hexanoate-2-salicylique, l'acide butyrate-2-salicylique, ainsi que leurs sels.

Pour la mise en œuvre de la présente invention, 15 les composés de formule (I) seront généralement utilisés à raison de 0,02 à 10 nmoles, avantageusement de 0,1 à 1 nmole, de composé par plante traitée.

Par exemple, on pourra utiliser des préparations dudit composé à des concentrations de 5  $\mu\text{M}$  à 1 mM, 20 avantageusement de 10  $\mu\text{M}$  à 500  $\mu\text{M}$ .

Les quantités mentionnées ci-dessus sont données à titre indicatif ; elles pourront être augmentées ou diminuées en fonction notamment de l'âge, de la nature ou des dimensions des plantes traitées, ainsi que la méthode 25 d'application utilisée. Par exemple, pour protéger de jeunes plantes, il sera possible d'abaisser la concentration à 500 nM.

Les concentrations indiquées ci-dessus peuvent être obtenues en émulsion ou dispersion aqueuse, notamment 30 dans le cas des dérivés comprenant une chaîne  $R_2$  ou  $R_3$  comportant au plus 8 atomes de carbones. Pour les dérivés comportant une chaîne  $R_2$  ou  $R_3$  de taille supérieure, on pourra utiliser comme solvants l'éthanol, le diméthylformamide ou le diméthylsulfoxyde, et ajouter la solution à un grand volume 35 d'eau.

En outre, les Inventeurs ont constaté que de façon surprenante, lorsqu'on associait un composé de formule générale (I) avec une élicitine, on observe une

potentialisation des effets biologiques de chacun des deux constituants, qui permet d'obtenir une protection efficace pour des doses qui sont 10 à 100 fois plus faibles que celles nécessaires lorsque chacun des 2 constituants est utilisé isolément.

La présente invention a donc pour objet l'utilisation d'un composé de formule générale (I) en association avec une élicitine, pour la protection des plantes contre des pathogènes.

Dans ce cadre, il est possible d'administrer séparément le composé de formule générale (I) et l'élicitine, par exemple en administrant l'un et l'autre successivement, ou à deux endroits différents de la plante. Il sera toutefois généralement plus commode de les administrer en mélange.

La présente invention propose en conséquence de nouvelles compositions utilisables pour la protection des plantes contre des pathogènes. Ces compositions comprennent un mélange d'une élicitine avec un composé répondant à la formule générale (I) tel que défini ci-dessus.

Des compositions conformes à l'invention peuvent par exemple être obtenues par simple mélange d'une élicitine en solution aqueuse avec une émulsion ou dispersion d'un composé de formule générale (I). Dans ces conditions, un complexe associant une molécule d'élicitine, avec une molécule du composé de formule générale (I) peut se former.

Selon un mode de réalisation préféré de la présente invention, ladite élicitine et ledit composé sont associés dans un rapport molaire de 1:1 à 1 :0,5.

Généralement, on administrera de 0,005 à 1 nmole, de préférence de 0,05 à 0,5 nmole d'élicitine et de composé de formule générale (I) ou de leur mélange par plante traitée.

Par exemple, on pourra utiliser des solutions comprenant un mélange élicitine/composé de formule générale (I) à une concentration de 0,1 µM à 100 µM, et de préférence de 10 µM à 50 µM.

Comme dans le cas des composés de formule générale (I) utilisés seuls, les quantités ci-dessus sont

données à titre indicatif et pourront varier selon l'âge, la nature ou la taille des plantes traitées, ainsi que selon la méthode d'application utilisée.

N'importe quelle protéine de la famille des élicitines peut être utilisée en association avec un composé de formule générale (I) pour la mise en œuvre de la présente invention. A titre d'exemples non-limitatifs, on citera la capsicéine, la parasiticéine, la cryptogéine, la cinnamomine, ou l'oligandrine.

L'utilisation des composés de formule (I) seuls ou en association avec une élicitine peut s'effectuer par applications sur les parties aériennes des plantes par des méthodes classiques, notamment par arrosage, ou par pulvérisation ; on peut également effectuer des applications sur les racines des plantes, par incorporation au sol ou au substrat de culture, ou par arrosage de ceux-ci avec une solution comprenant ledit composé ou ladite composition.

Du fait que les composés de formule (I) seuls ou en association avec une élicitine permet d'induire une résistance systémique acquise, elle confère aux plantes traitées un spectre de protection très large vis-à-vis de nombreux agents pathogènes, et notamment de microorganismes pathogènes, tels que des champignons, des bactéries, des phytoplasmes, ou des virus.

En outre, les composés de formule (I) ou les compositions conformes à l'invention permettent d'induire une résistance systémique acquise, chez des plantes qui ne sont pas naturellement réactives aux seules élicitines, telles que la tomate, le poivron, la pomme de terre ou la vigne.

La présente invention sera mieux comprise à l'aide du complément de description qui va suivre, qui se réfère à des exemples non-limitatifs illustrant l'induction d'une résistance systémique acquise et l'obtention d'une protection vis-à-vis d'un pathogène par l'utilisation d'un ester d'acide gras et d'acide salicylique, et d'une composition conforme à l'invention, associant ledit ester avec une élicitine.

**EXEMPLE 1 : INDUCTION DE NECROSES PAR L'ACIDE CAPROYL SALICYLIQUE, UTILISE SEUL OU EN ASSOCIATION AVEC UNE ELICITINE.**

L'activité élicitrice de l'acide caproyl salicylique, seul ou en association avec la cryptogéine, a été évaluée par observation de l'effet nécrosant, qui indique l'induction d'une réaction de type hypersensible, et la mise en place des mécanismes conduisant à l'établissement d'une RSA.

La cryptogéine est préparée selon le protocole décrit par BONNET et al. (Eur. J. Plant. Pathol., 102, 181-192, 1996), mise en solution dans de l'eau), et éventuellement conservée à -30°C jusqu'à utilisation. Elle est utilisée sous forme de solution mère aqueuse à 1 mg/ml.

L'acide caproyl salicylique a été préparé comme suit :

A une solution de pyridine refroidie à -15°C (7 ml, 0,08 mol) dans 50 ml de toluène ont été ajoutés : du chlorure de caproyle (12,5 ml, 0,07 mol) goutte à goutte par une ampoule à brome et 5 min plus tard une solution d'acide salicylique (10 g, 0,07 mol) dans 80 ml d'éther. Le mélange a été agité 1 h à -15°C et 2 h à 50°C, ensuite à température ambiante pendant la nuit. À la fin de la réaction, on a ajouté 2 L d'eau, le mélange a été laissé tourner pendant 2 h à température ambiante, le produit a été extrait par l'éther, la phase organique a été lavée à l'eau (3 fois), NaCl saturé, puis séchée sur Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, filtrée et évaporée à l'évaporateur rotatif, sous pression réduite à température ambiante. Le produit obtenu a été séché au dessiccateur en présence de pastilles de potasse. Le rendement est de 60 à 80%.

L'acide caproyl salicylique est conservé sous forme de dispersion à 1,4 mg/ml (10 mM), dans l'eau.

Pour l'obtention d'une composition acide caproyl salicylique/cryptogéine conforme à l'invention on ajoute, sous agitation, la dispersion d'acide caproyl salicylique à la solution de cryptogéine (0,5 à 1 ml de dispersion d'acide caproyl salicylique pour 1 ml de solution de cryptogéine).

Chez le tabac :

Des plants de tabac sont cultivés en serre, sous éclairage naturel. Ils sont utilisés lorsque les plantes sont âgées de 70 jours.

5 Des infiltrations de feuilles de tabac, à divers niveaux de la plante, ont été réalisées avec :

- la cryptogéine (10 µM) ;
- l'acide caproyl salicylique (10 µM) ;
- le mélange acide caproyl salicylique/cryptogéine (1 ou 10 µM) ;

et, à titre de comparaison avec :

- l'acide salicylique (10 µM) ;
- l'éthylène glycol salicylate (10 µM).

15 Des contrôles sont effectués par infiltration avec de l'eau.

20 3 lots de 5 plantes sont utilisées pour chaque essai. On infiltre dans un pétiole sous apical 10 µl de la solution à tester à l'aide d'une seringue en plastique de 1 ml sans aiguille. Les observations sont effectuées 48 h après le traitement.

Les résultats sont présentés dans la Figure 1.

Légende de la Figure 1 :

25 Les molécules infiltrées sont indiquées sur l'axe des abscisses : Témoin : eau ; CRY : cryptogéine ; CS : caproyl salicylique ; CRY+CS : mélange cryptogéine/caproyl salicylique ; AS : acide salicylique ; EGS : éthylène glycol salicylique. Tous les produits sont administrés à raison de 0,1 nmole/plant

30 L'axe des ordonnées indique l'intensité moyenne des nécroses, évaluée par le nombre et la taille de celles-ci.

35 On n'observe aucune nécrose dans le cas d'une infiltration avec l'acide salicylique, l'éthylène glycol salicylate ou l'eau. En revanche, l'infiltration avec la cryptogéine, utilisée seule, induit des nécroses. Des nécroses équivalentes sont obtenues avec l'acide caproyl salicylique utilisé à une concentration molaire 10 fois moins

importante que dans le cas de la cryptogéine. L'infiltration avec le complexe cryptogéine/caproyl salicylique utilisé à la même concentration molaire que l'acide caproyl salicylique, augmente considérablement l'intensité des nécroses par rapport à la cryptogéine ou au caproyl salicylique ; en outre, on observe lors de l'utilisation de ce mélange, l'apparition de nombreuses nécroses foliaires à distance du point d'inoculation, qui indiquent une systématisation de la réponse.

10 Ces résultats mettent en évidence l'activité biologique de l'acide caproyl salicylique en ce qui concerne l'induction de nécroses, ainsi que la potentialisation de l'activité biologique de l'acide caproyl salicylique et de la cryptogéine résultant de leur association.

15 Chez la tomate :

Les mêmes expérimentations que ci-dessus ont été effectuées chez la tomate, plante naturellement non-réactive à la cryptogéine.

20 Les différentes infiltrations et observations ont été réalisées selon les conditions indiquées ci-dessus pour le tabac.

25 Comme dans le cas du tabac, on n'observe aucune nécrose dans le cas d'une infiltration avec l'acide salicylique (AS), l'éthylène glycol salicylate (EGS), la cryptogéine (CRY) ou l'eau (témoin). Comme attendu, on n'observe aucune nécrose avec la cryptogéine. En revanche, l'infiltration avec l'acide caproyl salicylique (CS) seul ou en association avec la cryptogéine (CRY+CS) conduit aux mêmes résultats que dans le cas des plants de tabac de l'Exemple 1.

30 **EXEMPLE 2 : PROTECTION VIS-A-VIS DE L'OOMYCETE PATHOGENE *PHYTOPHTHORA PARASITICA NICOTIANAE* PAR L'ACIDE CAPROYL SALICYLIQUE, UTILISE SEUL OU EN ASSOCIATION AVEC UNE ELICITINE.**

Des plants de tabac ont été utilisés pour déterminer la protection induite vis à vis de *Phytophthora parasitica nicotiniae* par les différents produits testés à l'Exemple 1 ci-dessus.

Ce champignon induit chez le tabac une maladie dénommée "maladie du pied noir", caractérisée par des nécroses de la tige, visibles à l'extérieur, mais encore plus envahissantes à l'intérieur, et qui aboutit très rapidement à 5 la mort de la plante.

3 lots de 5 plantes sont utilisés pour chaque essai. Les plants de tabac sont cultivés et infiltrés comme décrit dans l'Exemple 1 ci-dessus, en utilisant les mêmes molécules, aux mêmes concentrations sauf pour le mélange 10 acide caproyl salicylique/cryptogéine qui est utilisé à 1 µM.

48 h après cette infiltration, le pétiole d'une feuille située deux étages foliaires plus bas est coupé et un disque de gélose comportant du mycélium de *Phytophthora parasitica nicotianae* est appliqué.

15 Les observations sont effectuées 7 jours après l'infection.

La progression de la maladie est évaluée par la mesure de la taille de la nécrose extérieure et intérieure de la tige.

20 Les résultats sont représentés dans la Figure 2.

Légende de la Figure 2 :

Les molécules infiltrées sont indiquées sur l'axe des abscisses : Témoin : eau ; CRY : cryptogéine (0,1 nmole/plant) ; CS : caproyl salicylique (0,1 nmole/plant) ; CRY+CS : mélange cryptogéine/caproyl salicylique (0,01 nmole/plant) ; AS : acide salicylique (0,1 nmole/plant) ; EGS : éthylène glycol salicylate (0,1 nmole/plant).

30 L'axe des ordonnées indique le pourcentage de protection, évalué par rapport au témoin (longueur moyenne de tige nécrosée chez les plantes traitées / longueur moyenne de tige nécrosée chez les plantes témoin traitées avec de l'eau x 100).

35 L'éthylène glycol salicylate (0,1 nmole/plante) non seulement ne donne aucune protection mais rend les plants de tabac plus sensibles à l'infection (la taille des nécroses est plus importante et donc la mort de la plante plus rapide). L'utilisation de l'acide salicylique

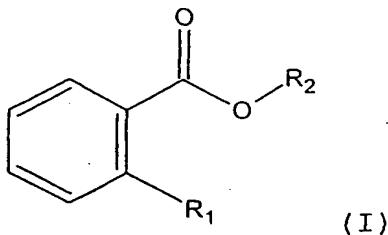
(0,1 nmole/plante) donne une faible protection (< 10%) alors que l'utilisation de l'acide caproyl salicylique, à dose 10 fois plus faible (0,01 nmole/plante) permet d'obtenir un indice de protection deux fois plus important (~25%). La 5 cryptogéine (CRY) à 0,1 nmole/plante donne un bon indice de protection (de l'ordre de 65%). Le mélange cryptogéine- acide caproyl salicylique (CRY+CS) à dose 10 fois plus faible (0,01 nmole/plante) donne toutefois un indice de protection encore plus élevé (plus de 90%).

10 Ces résultats montrent que l'acide caproyl salicylique confère une protection beaucoup plus efficace que l'acide salicylique, et qu'en outre l'utilisation d'un mélange cryptogéine-acide caproyl salicylique potentialise l'effet protecteur de chacun de ses constituants.

## REVENDICATIONS

1. Utilisation d'un composé de formule générale  
 (I) :

5



dans laquelle :

- a) R<sub>1</sub> est un groupe hydroxyle et R<sub>2</sub> est une chaîne aliphatique ou alicyclique en C<sub>2</sub> à C<sub>22</sub>; ou bien
- 10 b) R<sub>1</sub> est un groupe 2-oxy ester de formule -O-CO-R<sub>3</sub> dans laquelle R<sub>3</sub> est une chaîne aliphatique ou alicyclique en C<sub>1</sub> à C<sub>21</sub>; ou bien
- c) R<sub>1</sub> est un groupe 2-oxy ester de formule -O-CO-R<sub>3</sub> où R<sub>3</sub> est défini comme ci-dessus, et R<sub>2</sub> est une chaîne aliphatique ou 15 alicyclique en C<sub>2</sub> à C<sub>22</sub>,

pour la protection de végétaux contre des pathogènes.

2. Utilisation selon la revendication 1, caractérisée en ce que l'on utilise un composé b) dans lequel 20 R<sub>1</sub> est un groupe 2-oxy ester de formule -O-CO-R<sub>3</sub> dans lequel R<sub>3</sub> est une chaîne aliphatique ou alicyclique en C<sub>3</sub> à C<sub>13</sub>.

25 3. Utilisation selon la revendication 2, caractérisée en ce que ledit composé est choisi parmi l'acide octanoate-2-salicylique, l'acide hexanoate-2-salicylique, l'acide butyrate-2-salicylique, ainsi que leurs sels.

4. Utilisation selon l'une quelconque des revendications 1 à 3, caractérisée en ce que ledit composé est utilisé à raison de 0,02 à 10 nmoles par plante traitée.

30 5. Utilisation selon une quelconque des revendications 1 à 4, caractérisée en ce que ledit composé est associé avec une élicitine.

6. Composition comprenant un composé de formule générale (I) tel que défini dans une quelconque des revendications 1 à 3 et une élicitine.

7. Composition selon la revendication 6,  
5 caractérisée en ce que ladite élicitine est la cryptogéine.

8. Utilisation d'une composition selon une quelconque des revendications 6 ou 7, pour la protection de végétaux contre des pathogènes.

9. Utilisation selon la revendication 8,  
10 caractérisée en ce que ladite composition est utilisée à raison de 0,005 à 1 nmole par plante traitée.

1 / 2

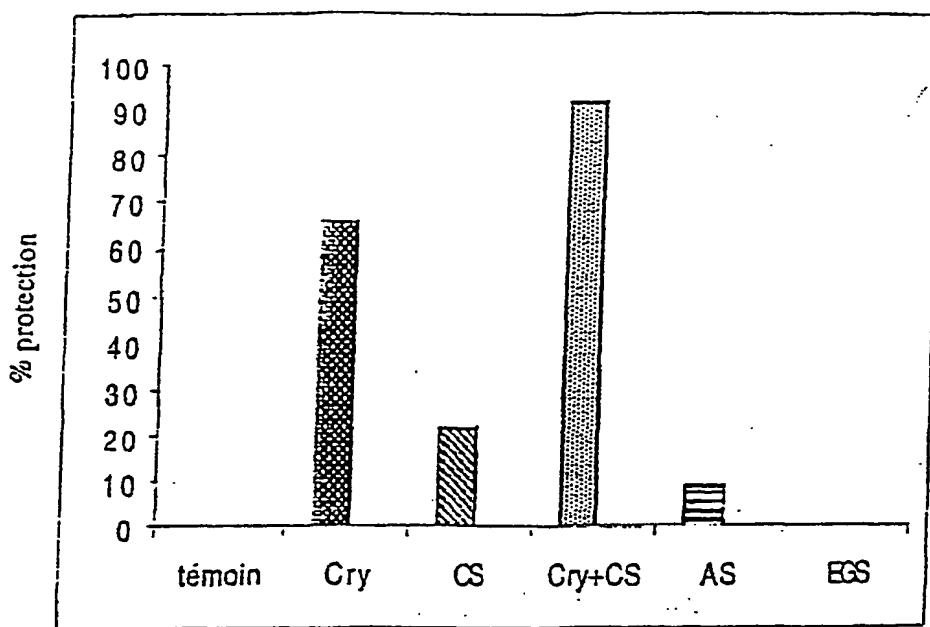


Figure 1

2 / 2

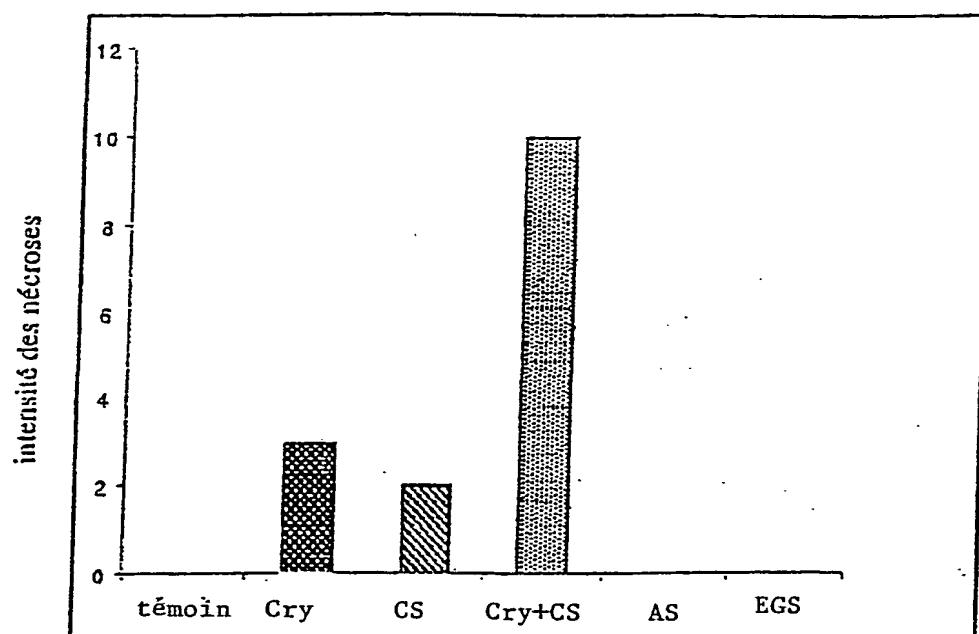


Figure 2

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No

PCT/FR 02/02246

**A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER**  
**IPC 7 A01N37/40 // (A01N37/40, 61:00, 63:04, 37:46)**

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

**B. FIELDS SEARCHED**

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

IPC 7 A01N

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used)

EPO-Internal, WPI Data, PAJ, BIOSIS, CHEM ABS Data

**C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT**

Category	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	WO 99 25191 A (BUNN ERIC ;DIXON KINGSLEY (AU); SENARATNA TISSA (AU); TOUCHELL DAR) 27 May 1999 (1999-05-27) page 1 -page 3, line 22 page 4, line 4 - line 9; claims 1,4; example 4 ---	1,4
X	WO 01 22822 A (WOOD STEVE) 5 April 2001 (2001-04-05) page 1 -page 2, line 18; claims 1,10 ---	1,4

 Further documents are listed in the continuation of box C. Patent family members are listed in annex.

## \* Special categories of cited documents :

- \*A\* document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
- \*E\* earlier document but published on or after the international filing date
- \*L\* document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
- \*O\* document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
- \*P\* document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

- \*T\* later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
- \*X\* document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
- \*Y\* document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art.
- \*&\* document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

25 October 2002

Date of mailing of the international search report

08/11/2002

## Name and mailing address of the ISA

European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2  
NL - 2280 HV Rijswijk  
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl.  
Fax: (+31-70) 340-3016

Authorized officer

Muellners, W

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Int'l Application No

PCT/FR 02/02246

## C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	<p>DATABASE BIOSIS 'Online! BIOSCIENCES INFORMATION SERVICE, PHILADELPHIA, PA, US; 1996 KELLER HARALD ET AL: "Salicylic acid mediates elicitin-induced systemic acquired resistance, but not necrosis in tobacco." Database accession no. PREV199699265007 XP002194564 abstract &amp; MOLECULAR PLANT-MICROBE INTERACTIONS, vol. 9, no. 8, 1996, pages 696-703, ISSN: 0894-0282</p> <p>---</p> <p>KLESSIG D F ET AL: "THE SALICYCLIC ACID SIGNAL IN PLANTS" PLANT MOLECULAR BIOLOGY, NIJHOFF PUBLISHERS, DORDRECHT, NL, vol. 26, 1994, pages 1439-1458, XP002923571 ISSN: 0167-4412 the whole document</p> <p>---</p> <p>PONCHET M ET AL: "Are elicitins cryptograms in plant-Oomycete communications?" CMLS CELLULAR AND MOLECULAR LIFE SCIENCES, vol. 56, no. 11-12, December 1999 (1999-12), pages 1020-1047, XP002194562 ISSN: 1420-682X * page 1020, le résumé *</p> <p>---</p> <p>HUNG DANIEL Y ET AL: "Synthesis, identification, characterization, stability, solubility and protein binding of ester derivatives of salicylic acid and diflunisal." INTERNATIONAL JOURNAL OF PHARMACEUTICS (AMSTERDAM), vol. 153, no. 1, 1997, pages 25-39, XP002194563 ISSN: 0378-5173 * page 25, le résumé * * page 26, tableau 1 *</p> <p>---</p> <p>FR 2 802 772 A (AGRONOMIQUE INST NAT RECH) 29 June 2001 (2001-06-29) the whole document</p> <p>-----</p>	1-9
A		1-9
A		1,5-9
A		1-3
P,A		1,5-9

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No

PCT/FR 02/02246

Patent document cited in search report		Publication date		Patent family member(s)		Publication date
WO 9925191	A	27-05-1999	AU WO	1136699 A 9925191 A1		07-06-1999 27-05-1999
WO 0122822	A	05-04-2001	WO AU EP	0122822 A1 5843499 A 1217893 A1		05-04-2001 30-04-2001 03-07-2002
FR 2802772	A	29-06-2001	FR EP	2802772 A1 1112689 A2		29-06-2001 04-07-2001

**RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE**

De la Recherche Internationale No

PCT/FR 02/02246

**A. CLASSEMENT DE L'OBJET DE LA DEMANDE**

CIB 7 A01N37/40 // (A01N37/40, 61:00, 63:04, 37:46)

Selon la classification internationale des brevets (CIB) ou à la fois selon la classification nationale et la CIB

**B. DOMAINES SUR LESQUELS LA RECHERCHE A PORTE**

Documentation minimale consultée (système de classification suivi des symboles de classement)  
CIB 7 A01N

Documentation consultée autre que la documentation minimale dans la mesure où ces documents relèvent des domaines sur lesquels a porté la recherche

Base de données électronique consultée au cours de la recherche internationale (nom de la base de données, et si réalisable, termes de recherche utilisés)

EPO-Internal, WPI Data, PAJ, BIOSIS, CHEM ABS Data

**C. DOCUMENTS CONSIDERES COMME PERTINENTS**

Catégorie	Identification des documents cités, avec, le cas échéant, l'indication des passages pertinents	no. des revendications visées
X	WO 99 25191 A (BUNN ERIC ; DIXON KINGSLEY (AU); SENARATNA TISSA (AU); TOUCHELL DAR) 27 mai 1999 (1999-05-27) page 1 -page 3, ligne 22 page 4, ligne 4 - ligne 9; revendications 1,4; exemple 4 ---	1,4
X	WO 01 22822 A (WOOD STEVE) 5 avril 2001 (2001-04-05) page 1 -page 2, ligne 18; revendications 1,10 ---	1,4 ---

Voir la suite du cadre C pour la fin de la liste des documents

Les documents de familles de brevets sont indiqués en annexe

• Catégories spéciales de documents cités:

- \*A\* document définissant l'état général de la technique, non considéré comme particulièrement pertinent
- \*E\* document antérieur, mais publié à la date de dépôt international ou après cette date
- \*L\* document pouvant jeter un doute sur une revendication de priorité ou cité pour déterminer la date de publication d'une autre citation ou pour une raison spéciale (telle qu'indiquée)
- \*O\* document se référant à une divulgation orale, à un usage, à une exposition ou tous autres moyens
- \*P\* document publié avant la date de dépôt international, mais postérieurement à la date de priorité revendiquée

- \*T\* document ultérieur publié après la date de dépôt international ou la date de priorité et n'appartenant pas à l'état de la technique pertinent, mais cité pour comprendre le principe ou la théorie constituant la base de l'invention
- \*X\* document particulièrement pertinent; l'invention revendiquée ne peut être considérée comme nouvelle ou comme impliquant une activité inventive par rapport au document considéré isolément
- \*Y\* document particulièrement pertinent; l'invention revendiquée ne peut être considérée comme impliquant une activité inventive lorsque le document est associé à un ou plusieurs autres documents de même nature, cette combinaison étant évidente pour une personne du métier
- \*Z\* document qui fait partie de la même famille de brevets

Date à laquelle la recherche internationale a été effectivement achevée

25 octobre 2002

Date d'expédition du présent rapport de recherche internationale

08/11/2002

Nom et adresse postale de l'administration chargée de la recherche internationale  
Office Européen des Brevets, P.B. 5818 Patentlaan 2  
NL - 2280 HV Rijswijk  
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,  
Fax: (+31-70) 340-3016

Fonctionnaire autorisé

Muellner, W

## RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE

PCT/FR 02/02246

C.(suite) DOCUMENTS CONSIDERES COMME PERTINENTS		
Catégorie	Identification des documents cités, avec, le cas échéant, l'indication des passages pertinents	no. des revendications visées
A	<p>DATABASE BIOSIS 'en ligne!'          BIOSCIENCES INFORMATION SERVICE,          PHILADELPHIA, PA, US; 1996          KELLER HARALD ET AL: "Salicylic acid          mediates elicitation-induced systemic          acquired resistance, but not necrosis in          tobacco."          Database accession no. PREV199699265007          XP002194564          abrégé          &amp; MOLECULAR PLANT-MICROBE INTERACTIONS,          vol. 9, no. 8, 1996, pages 696-703,          ISSN: 0894-0282</p> <p>---</p> <p>KLESSIG D F ET AL: "THE SALICYCLIC ACID          SIGNAL IN PLANTS"          PLANT MOLECULAR BIOLOGY, NIJHOFF          PUBLISHERS, DORDRECHT, NL,          vol. 26, 1994, pages 1439-1458,          XP002923571          ISSN: 0167-4412          le document en entier</p> <p>---</p> <p>PONCHET M ET AL: "Are elicitors          cryptograms in plant-Oomycete          communications?"          CMLS CELLULAR AND MOLECULAR LIFE SCIENCES,          vol. 56, no. 11-12,          décembre 1999 (1999-12), pages 1020-1047,          XP002194562          ISSN: 1420-682X          * page 1020, le résumé *</p> <p>---</p> <p>HUNG DANIEL Y ET AL: "Synthesis,          identification, characterization,          stability, solubility and protein binding          of ester derivatives of salicylic acid and          diflunisal."          INTERNATIONAL JOURNAL OF PHARMACEUTICS          (AMSTERDAM),          vol. 153, no. 1, 1997, pages 25-39,          XP002194563          ISSN: 0378-5173          * page 25, le résumé *          * page 26, tableau 1 *</p> <p>---</p> <p>FR 2 802 772 A (AGRONOMIQUE INST NAT RECH)          29 juin 2001 (2001-06-29)          le document en entier</p> <p>-----</p>	1-9
A		1-9
A		1,5-9
A		1-3
P,A		1,5-9

## RAPPORT DE

## CHERCHE INTERNATIONALE

De : le Internationale No

PCT/FR 02/02246

Document brevet cité au rapport de recherche		Date de publication		Membre(s) de la famille de brevet(s)		Date de publication
WO 9925191	A	27-05-1999	AU WO	1136699 A 9925191 A1		07-06-1999 27-05-1999
WO 0122822	A	05-04-2001	WO AU EP	0122822 A1 5843499 A 1217893 A1		05-04-2001 30-04-2001 03-07-2002
FR 2802772	A	29-06-2001	FR EP	2802772 A1 1112689 A2		29-06-2001 04-07-2001

**This Page is Inserted by IFW Indexing and Scanning  
Operations and is not part of the Official Record**

## **BEST AVAILABLE IMAGES**

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images include but are not limited to the items checked:

- BLACK BORDERS**
- IMAGE CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES**
- FADED TEXT OR DRAWING**
- BLURRED OR ILLEGIBLE TEXT OR DRAWING**
- SKEWED/SLANTED IMAGES**
- COLOR OR BLACK AND WHITE PHOTOGRAPHS**
- GRAY SCALE DOCUMENTS**
- LINES OR MARKS ON ORIGINAL DOCUMENT**
- REFERENCE(S) OR EXHIBIT(S) SUBMITTED ARE POOR QUALITY**
- OTHER:** \_\_\_\_\_

**IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.**

**As rescanning these documents will not correct the image problems checked, please do not report these problems to the IFW Image Problem Mailbox.**

... Page Blank (uspto)